

La búsqueda de genes de resistencia como una alternativa para la selección de portainjertos de aguacate con tolerancia a *Phytophthora cinnamomi*

Marco Antonio Cortés Rodríguez, Alejandra Hernández García, Rodolfo López Gómez y Rafael Salgado Garciglia

Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Edif. B1, Ciudad Universitaria, CP 58060, Morelia, Michoacán, México

Resumen

Uno de los problemas fitosanitarios más graves a nivel mundial para el aguacate (*Persea americana* Mill.) es la enfermedad que provoca pudriciones en la raíz de portainjertos de aguacate, cuyo agente causal es el oomiceto *Phytophthora cinnamomi* Rands, esta enfermedad ha sido un factor limitante en la producción. Las prácticas complementarias de manejo incluyen la prevención, el control químico y biológico y el uso de portainjertos tolerantes. Algunos portainjertos de aguacate han mostrado moderada y alta tolerancia al oomiceto, inhibiendo el progreso de la infección en la raíz. Por ello, una alternativa potencial es la selección de portainjertos de aguacate con tolerancia a *P. cinnamomi*. Con los avances de la biología molecular, la búsqueda de genes de resistencia es una alternativa viable, ya que se ha demostrado en algunas plantas el papel de ciertos genes que codifican para proteínas relacionadas a patogénesis (PR) y genes de resistencia (genes R), estos genes controlan el ataque de oomicetos, nemátodos, virus, bacterias y hongos. En esta revisión se describe la existencia de genes de resistencia para el control de fitopatógenos y el potencial de identificarlos en portainjertos de aguacate criollo mexicano tolerantes a *P. cinnamomi*.

Palabras clave: Aguacate criollo mexicano, genes de resistencia, *Phytophthora cinnamomi*.

Abstract

One of the major phytosanitary problems worldwide of avocado (*Persea americana* Mill.) is the root rot disease of the avocado rootstocks whose causal agent is the oomycete *Phytophthora cinnamomi* Rands, this disease has been a limiting factor in the production. Complementary management practices include prevention, chemical and biological control and the use of avocado tolerant rootstocks. Some avocado rootstocks have shown moderate and high tolerance to the oomycete, inhibiting the progress of infection in the root. Therefore, a potential alternative is the selection of avocado rootstocks tolerant to *P. cinnamomi*. With advances in molecular biology, the search for genes of resistance is a viable alternative, because it has been shown in some plants the role of certain genes that encode for pathogenesis-related proteins (PR) and resistance genes (R genes), these genes control the attack of oomycete, nematodes, viruses, bacteria and fungi. This review describes the existence of genes for resistance to *Phytophthora* control and the potential to identify genes of resistance in avocado Mexican race rootstocks tolerant to *P. cinnamomi*.

Keywords: Avocado Mexican race, resistance genes, *Phytophthora cinnamomi*.

Introducción

La importancia socioeconómica del aguacate (*Persea americana* Miller) se deriva del beneficio que derrama entre productores, comercializadores, industrializadores y consumidores. Los huertos de aguacate generan empleo al demandar mano de obra para realizar podas, riegos, fertilización, cuidado fitosanitario, la colecta, la selección, el empaque y la comercialización. México tiene el primer lugar tanto de productor como exportador mundial de aguacate Hass (*P. americana* Mill. cv. Hass) y (SAGARPA 2007; Téliz y Marroquín, 2007).

Sin embargo, un inconveniente en la producción del aguacate son las enfermedades de raíz, siendo la más importante y devastadora la pudrición radical, conocida como “tristeza del aguacatero” (Zentmyer, 1985). Esta enfermedad causada por

el oomiceto *Phytophthora cinnamomi* Rands, reduce la biomasa de la raíz y afecta su función debido al daño que causa en las raíces absorbentes. Los síntomas de esta enfermedad son clorosis, marchitez y defoliación, que se presentan en cualquier etapa del ciclo biológico de la planta, sin embargo, las plantas juveniles son más susceptibles (Zentmyer, 1985). En el estado de Michoacán la pudrición radical o tristeza del aguacatero causada por *P. cinnamomi* ocasionó daños severos a por lo menos 100,000 árboles de aguacatero, causando pérdidas económicas para los productores por más de 32 millones de pesos (Vidales y Alcantar, 1999).

En nuestro país y concretamente en la región aguacatera de Michoacán, el éxito en la productividad del aguacate Hass se le debe en gran medida al portainjerto utilizado, ya que éste le

✉ Autor de correspondencia: Rafael Salgado Garciglia, Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Edif. B3, 2o. Piso, Ciudad Universitaria, CP 58060, Morelia, Mich., México. Tel. 3265790 Ext. 116, Tel-Fax 3265788. Email: rsalgado@umich.mx

confiere mejor calidad agronómica por optimizar la absorción de agua y nutrimentos, y otorgar cierta tolerancia a patógenos del suelo. Estos portainjertos son aguacates de la raza Mexicana cuyo nombre común es aguacate criollo Mexicano (*P. americana* var. *drymifolia*) (Gallegos, 1983).

Una prioridad en la investigación mundial sobre aguacate es encontrar portainjertos tolerantes a *P. cinnamomi*, ya que el control de esta enfermedad es de interés común en toda la industria aguacatera (Gallo-Llobet *et al.*, 1999). Se han seleccionado genotipos de aguacate con tolerancia moderada a *P. cinnamomi*; como el cultivar Duke-6, Duke-7 y G6; y de alta tolerancia, como los cultivares D9, Toro Canyon, Thomas y Martin Grande (G755), todos ellos híbridos de aguacates criollos (Zentmyer, 1992). Actualmente en México, en las plantaciones de aguacate solo se utiliza como portainjerto la variedad Mexicana, debido a que los híbridos considerados como moderados o altamente tolerantes a *P. cinnamomi* no se adaptan a suelo y condiciones climáticas de la región aguacatera de nuestro país, lo cual repercute en la disminución de la productividad del cultivar Hass (Newett *et al.*, 2002).

Con los avances de la biología molecular es posible determinar la resistencia genética de una planta a las diversas plagas y enfermedades, con ello se han identificado los principales genes involucrados como respuesta de defensa en la interacción planta-patógeno. Estos genes de defensa pueden ser de dos tipos, los denominados genes *PR* que codifican para proteínas relacionadas con patogénesis (*PR*) y los genes *R*, genes de resistencia que dirigen la expresión de proteínas *R* que detectan patógenos y desencadenan respuesta de defensa. El control de enfermedades en plantas con el uso de genes de resistencia (genes *PR* y genes *R*) ha sido un éxito, ya que en muchos casos un solo gene de resistencia puede proveer una completa resistencia a una o más cepas de un patógeno en particular. Por esta razón, tanto los genes *PR* como los genes *R* son utilizados en programas de mejoramiento convencional para generar resistencia o tolerancia (Pink, 2002).

Respuestas de defensa en plantas

Tras el reconocimiento del patógeno se desencadenan las respuestas de defensa con rápido flujo de iones, el estallido oxidativo extracelular, la reprogramación transcripcional dentro y alrededor de los sitios de infección y en la mayoría de los casos la respuesta hipersensible (Nimchuk *et al.*, 2003). Se considera que la suma de esos eventos conduce a la detención del crecimiento del patógeno (Belkhadir *et al.*, 2004). En ausencia de un reconocimiento específico del patógeno, también ocurre una respuesta de defensa basal, la cual aparentemente es manejada por los llamados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs por sus siglas en inglés), tales como flagelina y lipopolisacáridos (Gómez-Gómez y Boller, 2002). En plantas, los PAMPs son más conocidos como inductores generales (no específicos). La defensa basal no evita la colonización por el patógeno, pero limita la extensión de su difusión (Glazebrook, 1997).

Durante la infección se pueden activar los genes de resistencia (genes *R*) que pueden funcionar para impedir el desarrollo del patógeno. Sin embargo, cuando un patógeno avirulento infecta una planta, con frecuencia provoca una muerte rápida

de células y la síntesis de compuestos antimicrobianos en el sitio de infección, que restringe el crecimiento del patógeno y lo torna avirulento (Dong, 1995). Como resultado ocurre una necrosis visible llamada respuesta hipersensible (Lamb *et al.*, 1989; Dixon y Lamb, 1990), que implica la expresión localizada de proteínas relacionadas a patogénesis (*PR*) y causa una muerte celular programada en el hospedero. En esta etapa del proceso de infección, ocurre la deposición de calosa en el sitio de infección (Vogel *et al.*, 2002), además de glóbulos extracelulares conteniendo compuestos fenólicos, los cuales se depositan cerca de las células que muestran la respuesta hipersensible y pueden funcionar en el reforzamiento de la pared celular (Vleeshouwer *et al.*, 2000). Con la respuesta hipersensible se forma una zona de células muertas alrededor del sitio de infección, ocurre síntesis de ácido salicílico y una acumulación de agentes antimicrobianos, como las proteínas *PR* (quitinasas y glucanasas) y fitoalexinas (Hammond-Kosack y Jones, 1996), también se da un desbalance del Ca^{2+} citosólico en el disparo de los mecanismos de defensa y en la mediación del establecimiento de la inmunidad sistémica (Delledone *et al.*, 2001) (**Figura 1**).

La aparición de una respuesta hipersensible no solamente restringe el crecimiento del patógeno sino también precede, y puede ser la causa directa de la activación de un proceso de señalización, que conduce a la expresión sistémica de una colección de genes *PR* y una resistencia no específica, reforzada y duradera contra un amplio rango de patógenos, conocida como resistencia sistémica adquirida (SAR) (Kuc, 1982; Ryals *et al.*, 1994). Por lo tanto, una planta expuesta a un patógeno avirulento puede ser “inmunizada” contra una variedad de patógenos virulentos. A partir de los resultados de Flor (1971) quien estudió la genética de la interacción entre la planta de lino y el patógeno *Melampsora lini*, se obtuvo una sustancial comprensión sobre las interacciones genéticas que controlan la resistencia de las plantas a las enfermedades, ya que se estudió concurrentemente la herencia de la resistencia en el hospedero y de la virulencia en el patógeno. Como resultado de estas investigaciones, se formuló la hipótesis de gene-por-gene, en su forma más simple, esta hipótesis establece que las plantas contienen genes de resistencia (*R*) sencillos, normalmente dominantes, que reconocen específicamente patógenos que contienen genes complementarios de avirulencia (*avr*). Estos pueden ser definidos como genes del patógeno que codifican para una proteína que es condicionalmente reconocida directa o indirectamente sólo por aquellas plantas que contienen el gene *R* complementario. El reconocimiento específico resulta en la inducción de la expresión de genes de defensa y la inhibición del crecimiento del patógeno (**Figura 1**) (Staskawicz, 2001).

Genes *R*

Los genes *R* en plantas codifican para receptores o componentes de receptores, localizados en la membrana celular o en el citoplasma. Estos genes *R* se clasifican en cinco grupos o familias en base al tipo de dominio que presentan (Bent, 1996; Sanseverino *et al.*, 2009). La mayoría de las proteínas *R* contienen un sitio de unión a nucleótido (NBS) y repeticiones ricas en leucina (LRR), de este tipo hay dos clases, TIR-NBS-LRR y CC-NBS-LRR; otro grupo se caracteriza por tener un dominio serín-treonín cinasa con un dominio extracelular LRR; el cuarto grupo son proteínas

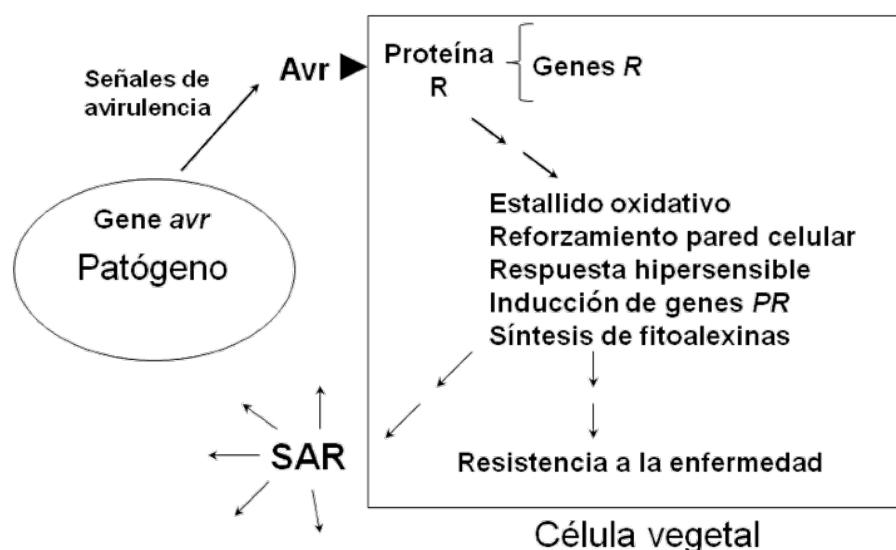


Figura 1. Esquema del modelo gene-por-gene en el mecanismo de defensa de las plantas (Flor, 1971)

cinasa unida con el receptor LRR; y los restantes son genes *R* que involucran mecanismos diferentes a los anteriormente citados (Afzal *et al.*, 2008; De Hoff *et al.*, 2009) (Figura 2). Se han identificado más de 90 genes *R* en diversas plantas, utilizando diferentes métodos moleculares (Ingvarsdén *et al.*, 2008), lo cual ofrece amplias oportunidades para aislar secuencias similares en diversas especies vegetales (Yan *et al.*, 2003).

Los genes *R* conforman la base de la resistencia vertical o monogénica u oligogénica. Los genes de resistencia se han utilizado en los programas de fitomejoramiento, porque su incorporación en un cultivar dado, es fenotípicamente detectable pues es determinante para la manifestación de la resistencia. A pesar de lo que sugiere su nombre, los genes *R* no son directamente responsables de la resistencia, sino que actúan como receptores de las señales (proteínas *Avr*) originadas del patógeno. Esto conlleva a la activación de diferentes cascadas de señales que en última instancia inician la expresión de genes responsables de los mecanismos de defensa (Hammond-Kosack y Jones, 1996).

En la tabla 1 se enlistan ejemplos de genes *R* identificados en plantas de interés agrícola (arroz, soya, maíz, trigo, fresa, papa y jitomate, entre otras), para el control de diversos patógenos (nematodos, virus, bacterias, hongos y oomicetos).

Genes PR

Las proteínas relacionadas con la patogénesis (PR) son un grupo de diversas proteínas que se producen en plantas en respuesta al ataque de un patógeno y que generalmente son inducidas en situaciones patológicas (van Loon *et al.*, 1994). Las PR se acumulan después del ataque de un patógeno (virus, viroides, bacterias, hongos, oomicetos, insectos y herbívoros) y son activados por ácido salicílico, ácido jasmónico y etileno (Sels *et al.*, 2008). Estas proteínas se han detectado e identificado en una amplia variedad de plantas y se clasifican de acuerdo a su actividad. A la fecha se conocen 17 grupos diferentes (Tabla 2).

Las proteínas PR2 son glucanasas, cuya actividad es degradar el principal componente de la pared celular de hongos, aunque contribuye a la resistencia por liberar fragmentos glicosídicos de la pared celular de la planta o del patógeno, que actúan como inductores de la respuesta de defensa. Varias familias de proteínas PR presentan actividad quitinasa (PR3, PR8 y PR11) que actúan en respuesta de defensa en forma sinérgica con las glucanasas. Las PR7 son endoproteinasas y las PR10 son ribonucleasas (van Loon *et al.*, 2006).

Las enzimas indispensables para la biosíntesis de metabolitos de bajo peso molecular (fitoalexinas), como chalcona sintasa

Planta	Gene <i>R</i>	Patógeno	Referencia
Jitomate	Cf9	Cladosporium fulvum	van Kan <i>et al.</i> , 1991
Soya	Rgh1	Heterodera glycines	Riggs y Wrather, 1992
Cebada	Rpg1	Puccinia graminis	Kilian <i>et al.</i> , 1994
Arroz	Xa21	Xanthomonas oryzae	Wang <i>et al.</i> , 1996
Cebada	Mlo	Erysiphe graminis	Buschges <i>et al.</i> , 1997
Jitomate	Pto	Pseudomonas syringae	Tang <i>et al.</i> , 1999
Soya	LM6	Phytophthora sojae	Graham <i>et al.</i> , 2002
Fresa	FXa	Botrytis cinerea	Arranz <i>et al.</i> , 2003
Maíz	RP1-D	Virus del mosaico del maíz	Shavannor <i>et al.</i> , 2010

Tabla 1. Ejemplos de genes *R* contra diversos tipos de patógenos (nematodos, virus, bacterias, hongos y oomicetos) en diferentes cultivos.

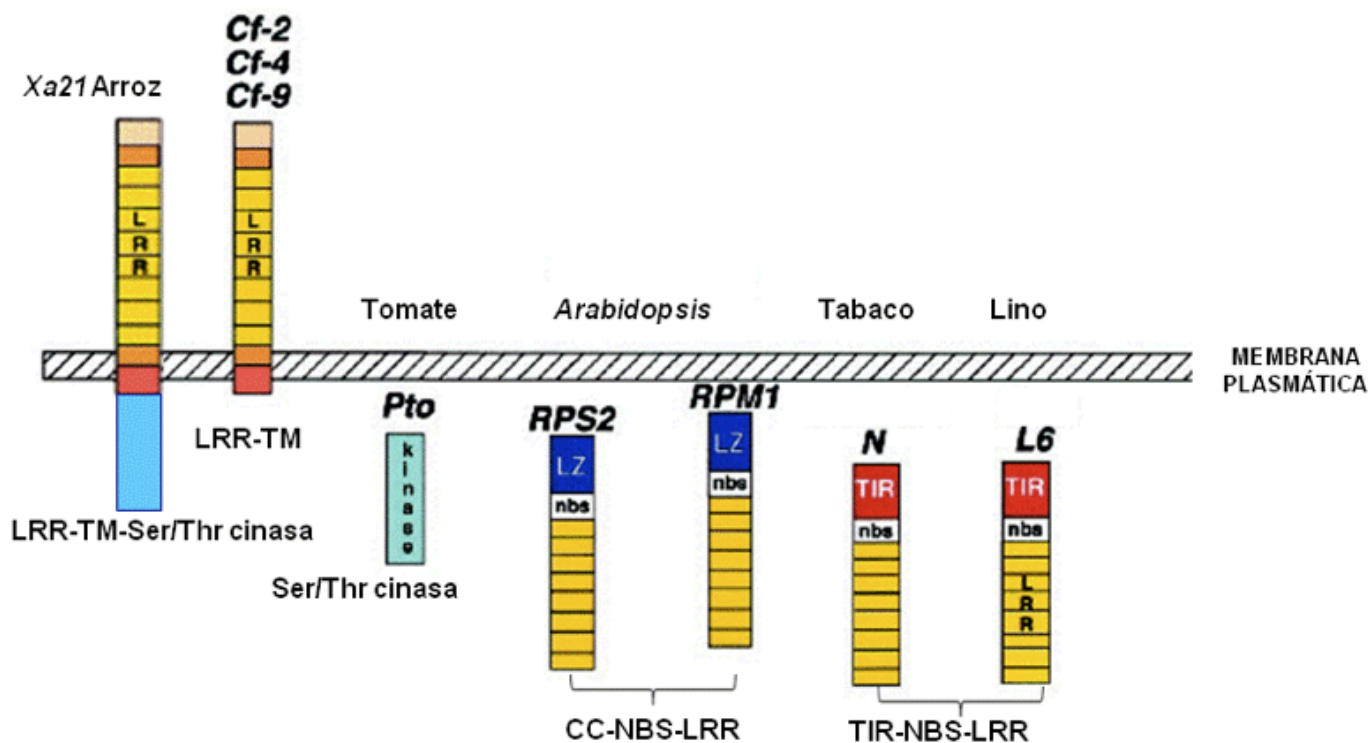


Figura 2. Diferentes clases de genes *R* (De Wit, 1997).

Familia	Miembro tipo	Propiedades
PR-1	PR-1a Tabaco	14-17kD
PR-2	PR-2 Tabaco	Clase I, II y III endo-beta-1,3-glucanasas, 25-35kD
PR-3	P, Q Tabaco	Clase I, II, IV, V, VI y VII endoquitinasas, 30kD
PR-4	R Tabaco	Actividad endoquitinasa, antifúngica, 13-19kD
PR-5	S Tabaco	Proteína tipo taumatina, osmotina, zeamatina, permeatina, similar a inhibidores alfa-amilasa/tripsina, antifúngica
PR-6	Inhibidor I Jitomate	Inhibidores de proteasas, 6-13kD
PR-7	P69 Jitomate	Endoproteasas
PR-8	Quitinasa Pepino	Clase III quitinasas, quitinasa/lisosima
PR-9	Peroxidasa formadora de lignina	Peroxidasas, proteínas tipo peroxidasas
PR-10	PR-1 Perejil	Ribonucleasas, Proteínas-Bet v 1-relacionadas
PR-11	Clase V Quitinasa Tabaco	Endoquitinasa
PR-12	Ps-AFP3 Rábano	Defensinas
PR-13	THI2.1 <i>Arabidopsis</i>	Tioninas
PR-14	LTP4 Cebada	Proteínas transportadoras de lípidos no-específicas (ns-LTPs)
PR-15	OxOa Cebada	Oxalato oxidasa
PR-16	OxOLP Cebada	Proteínas tipo oxalato-oxidasa
PR-17	PRp27 Tabaco	Se desconoce

Tabla 2. Clasificación de proteínas PR en diferentes plantas (Van Loon *et al*, 2006).

(CHS), flavanona-3-hidroxilasa (F3H) y fenilalanil-amonioliasa (PAL), pueden ser consideradas como proteínas relacionadas con mecanismo de defensa. Otras proteínas de defensa son las enzimas del estrés oxidativo, de reparación de tejidos, lignificación y otros procesos relacionados. Estos genes, llamados genes de defensa, conforman la base de la resistencia horizontal o poligénica conocida por los fitopatólogos y mejoradores de plantas. Los mecanismos de defensa de la resistencia horizontal, sean estos, la producción de fitoalexinas, proteínas PR, deposición de lignina, reacción hipersensible o SAR; son los responsables de actuar en detrimento del patógeno invasor. En otras palabras, la defensa en plantas es básicamente poligénica (van Loon *et al.*, 2006).

Aislamiento e identificación de genes de resistencia

La hibridación sustractiva, el escrutinio diferencial, la obtención de secuencias de expresión al azar (EST), mapeo de genes y microarreglos, son ampliamente utilizados para aislar diferencialmente genes expresados en plantas. Secuencias específicas de ADN genómico amplificadas por iniciadores degenerados basados en esos motivos son conocidas como genes análogos de resistencia (RGAs). El enfoque RGA ha sido usado para aislar genes de resistencia de las plantas y desarrollar marcadores moleculares. Leister y colaboradores (1996) obtuvieron productos de PCR en papa que eran homólogos a conocidos genes de resistencia, y ligados al locus de resistencia a nemátodos (*Gro1*) y al locus de resistencia al tizón tardío (*R7*). Similarmente, Kanazin y col. (1996) mapearon varios loci RGA que eran cercanos a conocidos genes de resistencia en soya. Yu y col. (1996), mapearon RGAs de genes para resistencia a potivirus (*Rsv1* y *Rpv*), pudrición de la raíz por *Phytophthora* (*Rps1*, *Rps2*, y *Rps3*) y por *Peronospora parasitica* (*Rmd*) en soya. Feuillet y col. (1997), aislaron un gene candidato *LrK10* para resistencia a la roya de la hoja en trigo. Muchos de esos RGAs están estrechamente ligados o cosegregan con loci de resistencia a enfermedades conocidas (Yu *et al.*, 1996; Deng *et al.*, 2000). Varios RGAs han facilitado la clonación de la longitud total de

genes *R* funcionales, incluyendo el gene *Dm3* de lechuga que confiere resistencia a 'mildiú vellosa' (*Bremia lactucae*; Meyers *et al.*, 1998) y el gene *Rpp8* de *Arabidopsis*, que es responsable de la resistencia a *Peronospora parasitica* (Aarts *et al.*, 1998). Por lo tanto, los RGAs proveen valiosos recursos de secuencias para utilizar el enfoque de genes candidato para clonar genes *R* (Pflieger *et al.*, 2001).

Chen y col. (1998a), mejoraron el enfoque RGA usando electroforesis de alta resolución y detección sensible para separar los productos de PCR amplificados con iniciadores basados en secuencias conservadas de genes de resistencia ya clonados. Posteriormente, la técnica fue denominada como polimorfismo de genes análogos de resistencia (RGAP) (Chen *et al.*, 1998b). La técnica RGAP ha sido exitosamente usada para desarrollar marcadores moleculares para genes que confieren resistencia a la roya lineal de la hoja y otras enfermedades del trigo y cebada (Chen *et al.*, 1998b).

Genes de resistencia contra *Phytophthora*

Los mecanismos de resistencia al ataque de *Phytophthora* se dividen en dos: aquellos que le confieren resistencia general, que es la resistencia de una planta hacia todas las razas de un patógeno, por ejemplo, las reacciones de hipersensibilidad, la inducción de barreras estructurales y la producción de fitoalexinas, donde se ven implicados la inducción de genes *PR*; y aquellos que confieren resistencia específica, en la cual interactúan los genes *avr* del patógeno y los genes *R* de la planta hospedera, la cual es efectiva dentro de un hospedero a ciertas razas de *Phytophthora* y que usualmente es controlada por genes individuales de resistencia en el hospedero (Erwin *et al.*, 1983).

Existe abundante literatura publicada que demuestra que en los últimos años son considerables los trabajos realizados en la búsqueda de resistencia a varias especies de *Phytophthora*, por ejemplo el mejoramiento del tomate para lograr la resistencia a *P. infestans*, en el cultivo de la fresa contra *P. fragariae*, y en soya con resistencia a *P. sojae*, entre otras (Tabla 3). Recientemente en soya se ha clonado el gene *R* (*Rps1k*) que confiere resistencia a *P.*

Planta	Gene	Clase	Especie de <i>Phytophthora</i>	Referencia
Jitomate	PR5	Tipo taumatina	<i>P. citrophthora</i>	Rodrigo <i>et al.</i> , 1991
Papa	R6 R7	TIR-NBS-LRR	<i>P. infestans</i>	El-Kharbotly <i>et al.</i> , 1996
Pimiento	Phyt3 Phyt1	TIR-NBS-LRR	<i>P. infestans</i> <i>P. capsici</i>	Lefebvre y Palloix, 1996
Fresa	Rpf2	TIR-NBS-LRR	<i>P. fragariae</i>	Van de Weg, 1996
Papa	Cyp	Cisteín proteasa	<i>P. infestans</i>	Avrova <i>et al.</i> , 1999
Soya	LM6	TIR-NBS-LRR	<i>P. sojae</i>	Graham <i>et al.</i> , 2002
Colza	RPS2	TIR-NBS-LRR	<i>P. capsici</i>	Tanhuanpaa, 2004
Soya	Rps1k	CC-NBS-LRR	<i>P. sojae</i>	Gao y Bhattacharyya, 2008
Papa	Tm2	TIR-NBS-LRR	<i>P. infestans</i>	Pel <i>et al.</i> , 2009

sojae, que causa la pudrición de raíces y tallos, clasificado dentro del grupo de genes CC-NBS-LRR (Gao y Bhattacharyya, 2008).

También genes *PR* se han reportado como responsables de la defensa contra *Phytophthora* spp, las proteínas PR-1 y PR-5 muestran actividad específica directa en contra de oomicetos. El mecanismo de acción de PR-1 aún no es muy claro, sin embargo, para los miembros de PR-5 se han descrito diversos mecanismos de acción, como permeabilizadores de membrana, unión e hidrólisis de glucanos y apoptosis. Cierta actividad antioomiceto también se ha demostrado por los miembros de la familia de proteínas PR-2, debido a su actividad hidrolítica; las beta-1,3-glucanasas pueden hidrolizar glucanos presentes en la pared celular de oomicetos (van Loon et al., 2006).

En papa se expresan constitutivamente los genes *PR1*, *PR2* y *PR5*, que contribuyen a una resistencia no específica contra *P. infestans* (Vleeshouwers et al., 2000). Kamoun (2001) reporta este tipo de resistencia en tabaco, perejil y jitomate. La proteína PR-5 de tabaco constitutivamente expresada en plantas transgénicas de *Citrus sinensis* (naranja) confiere resistencia a *P. citrophthora*, indicativo de la actividad antioomiceto de estas proteínas (Fagoaga et al., 2001).

Genes de resistencia en aguacate

Los estudios de secuencias nucleotídicas en aguacate, reportadas en el NCBI (National Center for Biotechnology Information), indican principalmente genes relacionados con el metabolismo primario y con procesos de división celular y fisiológicos (desarrollo vegetal). Otros se refieren a genes involucrados en el metabolismo secundario, que codifican para enzimas como la fenilalanil-amonio-liasa (PAL), flavanona-3-hidroxilasa (F3H) y chalcona sintasa (CHS), que juegan un papel importante en la defensa de las plantas.

Sin embargo, solo hay tres reportes de genes de aguacate descritos en el NCBI, involucrados directamente con resistencia. El gene *PR3* (endoquitinasa de 32 KDa) (Sowka et al., 1998), el gene *R* que expresa la proteína Serín-treonín-cinasa (STK) (Di Gaspero y Cipriani 2003; Chen et al., 2008), el gene *PR5* que codifica para una proteína relacionada a taumatina (Cortés-Rodríguez et al., 2009). Genes relacionados con la defensa en aguacate hacia *P. cinnamomi* aún no se han reportado.

En nuestro grupo de trabajo, actualmente se realiza la búsqueda de genes de resistencia en portainjertos de aguacate criollo mexicano para el control de *P. cinnamomi*. Se cuenta con dos genotipos tolerantes a este oomiceto (Cortés-Rodríguez et al., 2010) con los cuales se están realizando ensayos de interacción aguacate-*Phytophthora* para identificar genes relacionados con la resistencia. En un primer intento, se buscará observar la expresión del gene *PR5* en dichos genotipos de aguacate desafiados al ataque de *P. cinnamomi*. Mediante métodos moleculares también se amplificarán otros genes *R* involucrados en la resistencia a *Phytophthora* spp, como el *LM6* y *Cyp*, descritos para la resistencia a *P. sojae* en soya y a *P. infestans* en papa, respectivamente.

Conclusiones

La búsqueda de genes de resistencia en portainjertos de aguacate criollo mexicano (*P. americana* var. *drymifolia*) para el control de *P. cinnamomi*, es una realidad con el análisis de genotipos

tolerantes a este patógeno. La identificación molecular de genes de resistencia a *P. cinnamomi* permitirá desarrollar programas de mejoramiento genético que beneficien directamente los rendimientos del cultivo del aguacate comercial (cv. Hass).

Referencias

- Aarts, M.G.**, B.L. Hekkert, E.B. Holub, J.L. Beynon, W.J. Stiekema y A. Pereira (1998). Identification of R-gene homologous DNA fragments genetically linked to disease resistance loci in Arabidopsis thaliana. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 11:251-258.
- Arranz, M.**, A.P. Eslava, I.M. Diaz-Minguez y E.P. Benito (2003). *Hypervirulent strains of Botrytis cinerea show altered respiration. XII Fungal Genetics Conference, Asilomar, USA.* p. 385.
- Avrova, A.O.**, H.E. Stewart, W. De Jong, J. Heilbronn, G.D. Lyon y P.R.J. Birch (1999). A cysteine protease gene is expressed early in resistant potato interactions with *Phytophthora infestans*. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 12:1114-1119.
- Afzal, A. J.**, A.J. Wood y D.A. Lightfoot (2008). *Plant receptor-like serine threonine kinases: roles in signaling and plant defense. Molecular Plant-Microbe Interactions* 21:507-517.
- Belkhadir, Y.**, R. Subramaniam y J. L. Dangl (2004). *Plant disease resistance protein signalling: NBS-LRR proteins and their partners. Current Opinion Plant Biology* 7:391-399.
- Bent, A. F.** (1996). *Plant disease resistance genes: function meets structure. Plant Cell* 8:1757-1771.
- Buschges, R.**, K. Hollricher, R. Panstruga, G. Simons, M. Wolter, A. Frijters, R. van Daelan, T. van der Lee, P. Diergaarde y J. Groenendijk (1997). The barley Mlo gene: a novel control element of plant pathogen resistance. *Cell* 88:695-705.
- Chen, X. M.**, R. Line y H. Leung (1998a). *Genome scanning for disease resistance gene analogs in wheat, barley and rice by high-resolution electrophoresis. Theoretical and Applied Genetics* 97:345-355.
- Chen, X.M.**, P.M. Hayes, T. Toojinda, H. Vivar, D. Kudrna, A. Kleinhofs, H. Leung y R.F. Line (1998b). Genetic mapping of genes for stripe rust resistance in barley using resistance gene analog polymorphism and AFLP markers. *Phytopathology* 88:S16.
- Chen, H.**, Morrell P.L., De La Cruz M. y Clegg M.T. (2008). *Nucleotide diversity and linkage disequilibrium in wild avocado (Persea americana Mill.). Journal of Heredity* 99(4):382-389.
- Cortés-Rodríguez, M.A.**, J. Campos-García, R. Lopez-Gomez y R. Salgado-Garciglia (2009). *Persea americana* var. *drymifolia* PR-5 gene, partial cds. GenBank: FJ840440.1
- Cortés-Rodríguez, M.A.**, I.Y. Acosta-Rivera, A. Hernández-García, R. López-Gómez, J.L. Sánchez-Pérez, A.T. Chávez-Bárceñas, S.P. Pavía-Fernández y R. Salgado-Garciglia (2010). Evaluation of tolerance to *Phytophthora cinnamomi* in micropropagated plants of avocado Mexican race (*Persea americana* var. *drymifolia* Schldl. & Cham.' S.F. Blake). *Revista Mexicana de Fitopatología* (En prensa).
- De Hoff, P. L.**, M.B. Lawrence y A.M. Hirsch (2009). *Plant lectins: the ties that bind in root symbiosis and plant defense. Molecular Genetic Genomics* 282:1-15.
- De Wit, P.J.G.M.** (1997). *Molecular characterization of gene systems in plant fungus interactions and the application of avirulence genes in control of plant pathogens. Annual Review of Phytopathology* 30:391-402.
- Delledone, M.**, J. Zeier, A. Marocco y C. Lamb (2001). *Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant*

- hypersensitive disease resistance response. Proceeding of National Academy of Science, USA.* 98:13454-13459.
- Deng, Z.,** S. Huang, P. Ling, C. Chen, C. Yu, C.A. Weber, G.A. Moore y F.G. Gmitter Jr. (2000). Cloning and characterization of NBSLR class resistance gene-candidate sequences in citrus. *Theoretical and Applied Genetics* 101:814-822.
- Di Gaspero, G.** y G. Cipriani (2003). *Nucleotide binding sit/leucine-rich repeats*, Pto-like and receptor-like kinases related to disease resistance in grapevine. *Molecular Genetic Genomics* 269:612-623.
- Dixon, R.A.** y C.J. Lamb (1990). *Molecular communication in interactions between plants and microbial pathogens. Annual Review Physiology and Plant Molecular Biology* 41:339-367.
- Dong, X.** (1995). Finding the missing pieces in the puzzle of plant disease resistance. *Proceeding of National Academy of Science, USA.* 92:7137-7139.
- El-Kharbotly, A.,** C. Palomino-Sánchez, F. Salamini, E. Jacobsen y C. Gebhardt (1996). R6 and R7 alleles of potato conferring race-specific resistance to *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary identified genetic loci clustering with the R3 locus on chromosome XI. *Theoretical and Applied Genetics* 92:880-884.
- Erwin, D.C.,** S. Bartnicki-García y P.H. Tsao (1983). *Phytophthora: Its biology, taxonomy, ecology and pathology.* APS Press, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. 392 p.
- Fagoaga, C.,** I. Rodrigo y V. Conejero (2001). Increased tolerance to *Phytophthora citrophthora* in transgenic orange plants constitutively expressing a tomato pathogenesis related protein PR-5. *Molecular Breeding* 7:175-85.
- Feuillet, C.,** G. Schachermayr y B. Keller (1997). *Molecular cloning of a new receptor-like-kinase gene encoded at the Lr10 disease resistance locus of wheat. Plant Journal* 11:45-52.
- Flor, H.H.** (1971). *Current status of the gene-for-gene concept. Annual Review of Phytopathology* 9:275-296.
- Gallegos, E.R.** (1983). *Algunos aspectos del aguacate y su producción en Michoacán. Universidad Autónoma de Chapingo. Grupo Editorial Gaceta, S.A. Chapingo, México.* 317 p.
- Gallo-Llobet, I.,** S. Pérez-Zárate y F. Siverio-de la Rosa (1999). *Búsqueda de resistencia a Phytophthora cinnamomi Rands en patrones de aguacate de raza antillana. Proceeding of Word Avocado Congress IV, Acapulco., Mexico.*
- Gao, H.** y M.K. Bhattacharyya (2008). *The soybean-Phytophthora resistance locus Rps1-k encompasses coiled coil-nucleotide binding-leucine rich repeat-like genes and repetitive sequences. BioMed Central Plant Biology* 8:29-42.
- Glazebrook, J.** (1997). Use of Arabidopsis for genetic dissection of plant defense responses. *Annual Review Genetic* 31:547-569.
- Gómez-Gómez, L.** y T. Boller (2002). *Flagellin perception: a paradigm for innate immunity. Trends Plant Science* 7:251-256.
- Graham, M.A.,** L.F. Marek y R.C. Shoemaker (2002). *PCR Sampling of disease resistance-like sequences from a disease resistance gene cluster in soybean. Theoretical and Applied Genetics* 105:50-57.
- Hammond-Kosack, K.E.** y J.D.G. Jones (1996). *Resistance gene-dependent plant defense responses. Plant Cell* 8:1773-1791.
- Ingvarsen, C.R.,** B. Schejbel y T. Lübberstedt (2008). *Functional markers for resistance breeding. En: Lüttge, U., Beyschlag W. y Murata J. (eds), pp. 61-87. Progress in botany, vol. 69, part 2. Springer, Berlin.* 178 p.
- Kamoun, S.H.** (2001). *Nonhost resistance to Phytophthora: novel prospects for a classical problem. Current Opinion Plant Biology* 4:295-300.
- Kanazin, V.,** L.F. Marek y R.C. Shoemaker (1996). *Resistance gene analogs are conserved and clustered in soybean. Proceeding National Academy of Science, USA.* 93:11746-11750.
- Kilian, A.,** B.J. Steffenson, M.A. Saghai Maroof y A. Kleinbofs (1994). *A RFLP markers linked to the durable stem rust resistance gene Rpg1 in barley. Molecular Plant-Microbe Interactions* 7:298-301.
- Kuc, J.** (1982). *Induced immunity to plant disease. BioScience* 32:854-960.
- Lamb, C.J.,** M.A. Lawton, M. Dron y R.A. Dixon (1989). *Signals and transduction mechanisms for activation of plant defenses against microbial attack. Cell* 56:215-224.
- Lefebvre, V.** y A. Palloix (1996). *Both epistatic and additive effects of QTLs are involved in polygenic induced resistance to disease: a case study, the interaction pepper-Phytophthora capsici Leonian. Theoretical and Applied Genetics* 96:503-511.
- Leister, D.,** A. Ballvora, F. Salamini y C. Gebhardt (1996). *A PCR based approach for isolating pathogen resistance genes from potato with potential for wide application in plants. Nature Genetic* 14:421-429.
- Meyers, B.C.,** D.B. Chin, K.A. Shen, S. Sivaramakrishnan, D.O. Lavelle, Z. Zhang y R.W. Michelmore (1998). *The major resistance gene cluster in lettuce is highly duplicated and spans several megabases. Plant Cell* 10:1817-1832.
- Newett, S.D.E.,** J.H. Crandly y C.F. Balerdi (2002). *Cultivars and rootstocks. En: Whiley, A.W., Schaffer B. y Wolstenholme B.N. (eds), pp. 161-187. Avocado: Botany, production and uses. CABI Publishing.* 445 p.
- Nimchuk, Z.,** T. Eulgem, B.F. Holt III y J.L. Dangl (2003). *Recognition and response in the plant immune system. Annual Review Genetic* 37:579-609.
- Pel, M.A.,** S.J. Foster, T.H. Park, H. Rietman, G. van Arkel, J.D.G. Jones, H.J. Van Eck, E. Jacobsen, R.G.F. Visser y E.A.G. Van der Vossen (2009). *Mapping and cloning of late blight resistance genes from Solanum venturii using an inter-specific candidate gene approach. Molecular Plant Microbe Interactions* 22:601-615.
- Pflieger, S.,** V. Lefebvre y M. Causse (2001). *The candidate gene approach in plant genetics: a review. Molecular Breeding* 7:275-291.
- Pink, D.A.C.** (2002). *Strategies using genes for non-durable resistance. Euphytica* 1:227-236.
- Riggs, R.D.** y J.A. Wrather (1992). *Biology and management of the soybean cyst nematode. St Paul, MN: APS Press.* 127 p.
- Rodrigo, I.,** P. Vera, R. Frank y V. Conejero (1991). *Identification of the viroid-induced tomato pathogenesis-related (PR) protein P23 as the thaumatin-like tomato protein NP24 associated with osmotic stress. Plant Molecular Biology* 16:931-934.
- Ryals, J.,** S. Uknes y E. Ward (1994). *Systemic acquired resistance. Plant Physiology* 104:1109-1112.
- SAGARPA (2007).** Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación: SIACON, Sistema de Información Estadística.
- Sanseverino, W.,** G. Roma, M. De Simone, L. Faino, S. Melito, E. Stupka, L. Fruscianty y M.R. Ercolano (2009). *PRGdb: a bioinformatics platform for plant resistance gene analysis. Nucleic Acids Research [internet]. Available from <http://nar.oxfordjournals.org/cgi/content/full/gkpv978v1>*
- Sels, J.,** J. Mathys, B.M. De Coninck, B.P. Cammue y M.F. De Bolle (2008). *Plant pathogenesis-related (PR) proteins: A focus on PR*

- peptides. *Plant Physiology and Biochemistry* 10:1011-1016.
- Shavannor, M.S.**, M. Steinau, H.N. Trick y H.H. Scot (2010). Recombinant Rp1 genes confer necrotic or nonspecific resistance phenotypes. *Molecular Genetics and Genomics* 283(6):591-602.
- Sowka, S.**, L.S. Hsieh, M. Krebitz, A. Akasawa, B.M. Martin, D. Starrett, C.K. Peterbauer, O. Scheiner y H. Breiteneder (1998). Identification and cloning of prs a 1, a 32-kDa endochitinase and major allergen of avocado, and its expression in the yeast *Pichia pastoris*. *The Journal of Biological Chemistry* 273(43):28091-28097.
- Staskawicz, B.J.** (2001). *Genetics of plant-pathogen interactions specifying plant disease resistance*. *Plant Physiology* 125:73-76.
- Tang, X.**, M. Xie, Y.J. Kim, J. Zhou. D.F. Klessig y G.B. Martin (1999). Overexpression of pto activates defense responses and confers broad resistance. *Plant Cell* 11:15-30.
- Tanhuanpaa, P.** (2004). Identification and mapping of resistance gene analogs and a white rust resistance locus in *Brassica rapa* ssp. *oleifera*. *Theoretical and Applied Genetics* 108:1039-1046.
- Téliz, O.D.** y P.F. Marroquín (2007). *Importancia histórica y socioeconómica del aguacate*. En: Téliz, D. (ed.), pp. 3-28. El aguacate y su manejo integrado (2da. edición), Editorial Mundi Prens. México.
- Van de Weg, W.E.** (1996). *Resistance to Phytophthora fragariae var. fragariae in strawberry: the Rpf2 gene*. *Theoretical and Applied Genetics* 94(8):1092-1096.
- Van Kan, J.A.L.**, G.F.J.M. Van den Ackerveken y P.J.G.M. De Wit (1991). Cloning and characterization of cDNA of avirulence gene *Avr9* of the fungal tomato pathogen *Cladosporium fulvum*, causal agent of tomato leaf mold. *Molecular Plant Microbe Interactions* 4: 52-59.
- van Loon, L.C.**, W.S. Pierpoint, Th. Boller y V. Conejero (1994). Recommendations or naming plant pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology Reports* 12:245-64.
- van Loon, L.C.**, M. Rep y C.M. Pieterse (2006). *Significance of inducible defense-related proteins in infected plants*. *Annual Review of Phytopathology* 44:135-162.
- Vidales, F.J.A.** y R.J.J. Alcántar (1999). *Acción de la solarización y de la materia orgánica en el control de la tristeza (Phytophthora cinnamomi Rands) del aguacate (Persea americana Mill.)*. *Revista Chapingo, Serie Horticultura* 5:255-259.
- Vleeshouwers, V.G.A.A.**, W. Van Dooijeweert, F. Govers, S. Kamoun y L.T. Colon (2000). The hypersensitive response is associated with host and nonhost resistance to *Phytophthora infestans*. *Planta* 210:853-864.
- Vogel, J.**, T.K. Raab, C. Schiffy S.C. Somerville (2002). *PMR6*, a pectate lyase-like gene required for powdery mildew susceptibility in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 14:2095-2106.
- Wang, G.L.**, W.Y. Song, D.L. Ruan, S. Sideris y P.C. Ronald (1996). The cloned gene, *Xa21*, confers resistance to multiple *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates in transgenic plants. *Plant Molecular Microbe Interactions* 9:850-855.
- Yan, G.P.**, X.M. Chen, R.F. Line y C.R. Wellings (2003). Resistance gene-analog polymorphism markers co-segregating with the *Yr5* gene for resistance to wheat stripe rust. *Theoretical and Applied Genetics* 106:636-643.
- Yu, Y.G.**, G.R. Buss y M.A. Saghai-Marooif (1996). *Isolation of a superfamily of candidate disease-resistance genes in soybean based on a conserved nucleotide-binding site*. *Proceeding National Academy of Science, USA*. 93:11751-11756.
- Zentmyer, G.A.** (1985). *Origin and distribution of Phytophthora cinnamomi*. *California Avocado Society Yearbook* 69:89-94.
- Zentmyer, G. A.** (1992). *The Avocado Quarterly*, Research Gazette 21:3-17.